LANE MEDICAL LIBRARY SAN FRANCISCO

STANFORD UNIVERSITY LIBRARY APR 19 1922

Aus dem pharmakologischen Institut der Universität zu Berlin.

Die reduzierende Substanz in der Hefe. Beiträge zur Kenntnis der Oxydation des Cysteins.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DER

MEDIZINISCHEN DOKTORWÜRDE

AN DER

FRIEDRICH-WILHELMS-UNIVERSITÄT

ZU BERLIN.

VON

Friedrich Baum

Medizinalpraktikant aus Zella-St. Bl. (Sachsen Coburg-Gotha).

Tag der Promotion: 6. Februar 1914.

Emil Ebering, Berlin NW., Mittelstr. 39.

Gedruckt mit Genehmigung

der

Medizinischen Fakultät der Universität Berlin.

Referent: Prof. Dr. **Heffter**.

Meinem lieben Vater

in Dankbarkeit zugeeignet.

I.

Die reduzierende Substanz in der Hefe.

Ein gutes Stück weiter auf dem Wege zum Verständnisse der chemischen Vorgänge im Zelleibe wurde die Biologie gebracht, als es Hefftter gelang, für eine große Zahl der dem Protoplasma eigentümlichen reduzierenden Eigenschaften die dort vorhandene Sulfhydrylgruppe verantwortlich zu machen. Damit konnten an Stelle der wissenschaftlich nicht befriedigenden Substitution von besonderen reduzierenden Fermenten wie Reduktasen, Hydrogenasen, exakte wissenschaftliche Anschauungen treten. Auch die Sauerstoffaffinität der Gewebe kann zum Teil auf die Avidität dieses ungesättigten Sulfhydryl-Radikals zurückgeführt werden, dessen labile, chemisch aktive Struktur sich auch in dem Vermögen der Autoxydabilität verrät. Schließlich deutet die von Hefftter, Strassner u. a. gefundene Parallele zwischen Reduktionsvermögen der Gewebe — geleistet eben durch diese Sulfhydrylgruppe — und allgemeiner Stoffwechselintensität gerade dieser Gewebe wohl am sichersten auf die Bedeutung dieser chemisch nun fixierten Gruppe für den ganzen biologischen Prozeß hin; Gola beansprucht die Sulfhydrylgruppe gerade für die meristematischen Zellen als integrierenden Bestandteil.

Doch eine Einschränkung besteht zu Recht: schon Hefftter unterschied zwei Modi der Reduktion; das eine — noch unbekannte — System wird durch Blausäure und Temperaturen von 100 ° zerstört — es leistet die Reduktion von Nitraten zu Nitriten und von Nitrobenzol zu Anilin —, das andere, durch die Sulfhydrylgruppe bedingte, nicht. Diese scharfe

Trennung hat zwar Strassner als unzutreffend erwiesen, dennoch aber sind wir für die Erklärung gewisser Reduktionsvorgänge noch genötigt, zu Enzymen, wie Katalasen, oder Bachs Perhydridasen, unsere Zuflucht zu nehmen.

Zunächst sei es erlaubt, eine kurze zusammenfassende Uebersicht über die chemische Natur und die chemischen Funktionen der die Sulfhydrylgruppe enthaltenden Gewebsbestandteile zu geben. Heffter hat bekanntlich in verschiedenen merkaptanähnlichen Thiosäuren der aliphatischen und aromatischen Reihe chemische Verwandte zu den reduzierenden Substanzen der Gewebe erkannt und nimmt daher auch dort Sulfhydrylradikale in merkaptanartiger Bindung an, etwa als Gruppen des Proteinmoleküls gedacht.

Sowohl das reduzierende Wirkungen ausübende Protoplasma der Gewebe wie diese Thiokörper haben folgende gemeinsame Charakteristika: die Autoxydabilität (Uebergang in Dithioverbindungen — Sauerstoffaffinität der Zelle) und die damit zusammenhängende, bei Luftzutritt allmählich, im Sauerstoffstrome schneller schwindende Kraft des Reduktionsvermögens; die sofortige Oxydation durch Stoffe wie $FeCl_3$, $KMnO_4$, FeK_3CN_6, $CuSO_4$, Jod, Brom usw.; Blausäure, Toluol, Chloroform haben kaum irgendwelchen hemmenden Einfluß (aus HCN wird HSCN, daher die scheinbare anfängliche Verzögerung im Reduktionsprozesse); die Möglichkeit jederzeitiger Regeneration des geschwundenen Reduktionsvermögens durch Wasserstoff in statu nascendi resp. 10 %iges Natriumsulfit; das Temperaturoptimum, bei 37 ° gelegen. Der Reduktionsprozeß kann sowohl auf einer Aufnahme von Sauerstoff wie auf einer Abgabe von Wasserstoff beruhen — intermediär kann Wasserstoffsuperoxyd entstehen —; daher die Wirkungen: Entfärbung von Methylenblau und andern Farbstoffen (Guajakblau), Reduktion des Oxyhämoglobins, Ausfällen der Metalle aus Selen- und Tellursalzen, Bildung von Kakodyloxyd aus Kakodylsäure, Jodiden aus Jodaten, Ferroverbindungen aus Ferriverbindungen und von Schwefelwasser-

stoff aus dem System zugefügtem Schwefel. Alle diese Reduktionen sind quantitativ eng begrenzt. Nicht allen Geweben in gleicher Weise kommen die genannten Eigenschaften zu. So nimmt Ovalbumin insofern eine Sonderstellung ein, als der native Eiweißkörper Farbstoffe und die Salze von Se und Te unberührt läßt und auch seine reduzierenden Eigenschaften besser wahrt als viele andere Gewebe. Heffter wies aber darauf hin, daß auch in den Thiosäuren die Sulfhydrylgruppe eine mehr oder weniger große Labilität besitzt. Das zeigt sich darin u. a., daß Thermostabilität keineswegs integrierender Faktor aller Thiosäuren ist, und Hahn hat Recht, wenn er darin keinen Beweis für die Gegenwart eines Frmentes sieht, wenn er findet, daß Hefepreßsaft nach Erhitzen auf 65° nicht mehr imstande ist, $Na_2S_2O_3$ unter Bildung von H_2S zu reduzieren. Gerade in diesem Punkte der Thermostabilität herrscht wenig Einstimmigkeit unter den Autoren; es ist wohl anzunehmen, daß mehrere SH-Gruppen von verschiedener Labilität und chemischer Aktivität im Zellleibe existieren, die unter Umständen alle auch verschiedene Reduktionsprozesse ausführen.

Ein von Heffter erhobener Befund ist besonders dazu angetan, gegen das Vorkommen reduzierender Enzyme zu sprechen; er fand, daß „das Reduktionsvermögen in der Zelle ein zeitlich beschränkter Faktor ist und z. B. beim kristallinisch rein darstellbaren Ovalbumin in bestimmtem Gewichtsverhältnisse zur Menge des angewandten Eiweißkörpers stattfindet, also entsprechend der Reaktion zwischen Schwefel und einer Sulfhydrylverbindung

$$\begin{matrix} R—SH \\ \\ R—SH \end{matrix} + S = H_2S + \begin{matrix} RS \\ | \\ RS. \end{matrix}$$

Endlich haben wir in der Nitroprussidnatrium-Reaktion der Gewebe und Gewebsextrakte nach einwandfreien Ergebnissen von V. Arnold und Heffter einen genauen Indikator für die reduzierende Kraft derselben, id est für das Vor-

handensein reduktionsfähiger SH-Gruppen, ganz gleichgültig, ob sie dem Proteinmolekül angehören oder organischen Verbindungen der aromatischen und aliphatischen Reihe. Da unter den Eiweißspaltprodukten Cystein als einzige Aminosäure eine positive Nitroprussidreaktion gibt, und auch sonst in seinem Verhalten ganz dem der Eiweißkörper entspricht, sieht Hefter im Cystein das Modell einer solchen reagierenden Gruppe des Protoplasmas, und Arnold bewies durch eindeutige spezifische Reaktionen tatsächlich das Vorkommen des Cysteins in einer großen Zahl tierischer Gewebe, so daß er diesen Körper für einen primären Zellbestandteil im Sinne Kossels hält.

Daß die lebende Hefezelle sowohl wie Hefepreßsaft reduzierende Eigenschaften haben, ist auch schon seit langem bekannt. Schon 1869 stellte Nessler, 1874 Dumas die Tatsache fest, daß bei dem Gärprozesse der Hefe hinzugefügter freier oder gebundener Schwefel — je nach dem Hefestamm — zu Schwefelwasserstoff reduziert wird. Der französische Forscher de Rey-Pailhade bestätigte dies Verhalten und fand weiter, daß auch in einen 50 % igen alkoholischen Auszug das reduzierende Prinzip der Hefezelle übergeht; dieses hat nach ihm Fermentnatur; er nennt es Philothion (später = Hydrogenase). Auch Indigkarmin wird vom „Philothion" reduziert; sein Arbeitsoptimum liegt bei 35 bis 40 °; es büßt durch Stehen an der Luft und im Sauerstoffstrome an Wirksamkeit ein, nicht dagegen in einer N- oder H- oder CO_2-Athmosphäre; durch Jod, Brom und ähnliche wird es sofort unwirksam gemacht.

Pozzi-Escot bestätigte und erweiterte die Angaben de Rey-Pailhades, nur glaubt er, daß das „Philothion" aus mindestens zwei Fermenten besteht. Er gewann seinen Hefesaft durch Plasmolysieren der Hefezellen vermittels Pulverzucker; es gelang ihm, mit Hilfe dieses Saftes Selensalze und angeblich auch Anilin zu reduzieren. Reduktionsvermögen

der Gewebe resp. Menge des „Philothion“ und Sauerstoffaffinität der Gewebe entsprachen seiner Ansicht nach einander.

M. Hahn untersuchte einen nach Buchners Vorschrift hergestellten Preßsaft auf seine reduzierenden Wirkungen hin, speziell gegenüber Methylenblau, und fand: die reduzierende Wirkung ist eine der Leibessubstanz der Hefezelle als solcher zukommende Eigenschaft, nicht etwa durch Stoffwechselprodukte bedingt; das reduzierende Prinzip geht in den Hefepreßsaft über; dieser verliert beim Stehen an der Luft nach und nach das Vermögen, Methylenblau zu entfärben; nach einstündigem Erhitzen auf 55—60 ° hat er dieses Vermögen ebenfalls mehr oder weniger vollständig eingebüßt; Antiseptika wie Toluol schädigen nicht; das Temperaturoptimum des Reduktionsvermögens liegt bei 40 °; das Vermögen, Methylenblau zu entfärben, ist quantitativ eng begrenzt; es besteht ein Parallelismus zwischen Gärwirkung des Saftes und reduzierender Kraft. Hahn schließt aus dem allen, daß das Reduktionsvermögen zum größten Teile auf labilen Verbindungen der Hefeleibessubstanz beruht und sagt, es sei denkbar, „daß ebenso wie die Gärwirkung auch die Reduktion durch ein Ferment, wenn auch nicht dasselbe, hervorgebracht wird“.

Und nach Hahn wurde noch von verschiedenen Autoren die Ansicht vertreten, daß die reduzierende Substanz in der Hefe Enzymnatur habe, besonders von russischer Seite. So schreibt Palladin einen Artikel: „Ueber die Beteiligung der Reduktase im Prozeß der Alkoholgärung“ und beweist den Fermentcharakter damit, daß gekochtes Zymin kein Selen mehr zu reduzieren vermag. Die reduzierenden Fermente, Reduktasen und Katalasen sind nach ihm anaerobe Enzyme.

Kostytschew braucht eine „Reduktase“ für seine Theorie der Acetaldehydreduktion zu Alkohol im Gärprozesse und Chowrenko kommt zu folgendem Ergebnisse: in der lebenden Hefezelle und im Zymin gibt es ein schwefelhydrogenisierendes, also reduzierendes Ferment, das beim Gärprozesse beteiligt ist, für von außen herangebrachte Sub-

stanzen das Maximum seiner Tätigkeit unmittelbar nach dem Gärprozesse aufweist, im Kohlensäurestrom bedeutend beständiger und wirksamer ist als im Luftstrome, gegen Giftstoffe, wie Thymol, Toluol und Alkohol eine gewisse Resistenz, dagegen keine Coctostabilität besitzt, und das in Wasser und Alkoholwasser (1 : 1) löslich ist. Das Ferment hat aber nach Chowrenko doch wohl „nicht vollkommen den Charakter eines Katalysators, es wird bei der chemischen Arbeit verzehrt und nicht regeneriert, um mit neuen Mengen des zu reduzierenden Stoffes zu reagieren"; wenigstens nicht im Hefesaft. Eigentlich ein Zugeständnis, das dem grundlegenden Gesetze von der Erhaltung der Fermentwirksamkeit im Verlauf der Reaktion widerspricht.

Entgegen diesen Anschauungen über einen fermentativen Charakter der Reduktionsprozesse in den Hefezellen liegt es nahe, nachdem man in vielen anderen tierischen und pflanzlichen Geweben die Annahme von Reduktasen entbehrlich gemacht hat, auch die zweifellos vorhandenen reduzierenden Wirkungen der Hefezelle und ihrer Extrakte wenigstens zum Teil auf ähnliche rein chemische Weise zu erklären. Schon Hefftter schwebte die Ausdehnung seiner Annahme von SH-Gruppen als wirkenden Agentien auch für die Hefezelle vor; „die Sulfhydrylgruppen können, wenn wir von der Nitritbildung absehen, dieselben Reduktionen, teils Wasserstoffanlagerungen, teils Sauerstoffentziehungen, ausführen, wie etwa Leberbrei oder ein Hefeextrakt". Auch hat er eigentlich schon den Nachweis solcher aktiver SH-Gruppen im Protoplasma geführt, indem er am Aceton-Dauerhefeextrakt die Nitroprossidnatrium-Reaktion anstellen konnte. De Rey-Pailhade hat selbst ein wichtiges Kriterium gegen seine Enzymtheorie angeführt: nach ihm vermögen 100 ccm Hefepreßsaft nur 1 mg H_2S zu bilden; d. h. in diesem Verhältnis von Katalysatormenge zu der des umgewandelten Stoffes liegt ein klaffender Widerspruch wieder gegen eines unserer Fundamentalgesetze vom Charakter der Enzymtätigkeit.

In den folgenden Versuchen möchte ich den Nachweis führen, daß auch in der Hefezelle die Annahme von Reduktasen für die H_2S-Bildung aus Schwefel eine entbehrliche Hypothese geworden ist, da sich hier ebenso wie in den tierischen Organen Substanzen mit labilen SH-Gruppen nachweisen lassen, die einige den Reduktasen zugeschriebene Leistungen ebenfalls zu erzeugen vermögen.

Verwandt wurde gewöhnlicher Preßhefesaft und Zymin; der Saft wurde erhalten, indem die Hefezellen durch Pulverzucker nach Pozzi-Escot oder durch Na_2SO_4 krist. oder durch Aether zur Plasmolyse gebracht wurden. Das Vorhandensein labiler Sulfhydrylgruppen bewies ein positiver Ausfall der Nitroprossidnatrium-Reaktion, die reduzierende Eigenschaft wurde geprüft an der Bildung von Schwefelwasserstoff nach Zusetzen freien Schwefels zu dem zu untersuchenden Objekte, evtl. unter Erwärmen auf 34 ° im Wasserbade. Der Nachweis des H_2S geschah durch die Schwefelbleiprobe. Die Nitroprussidreaktion wurde nach Heffters und Arnolds Angaben ausgeführt: der zu prüfenden Flüssigkeit (oder auch festen Substanz) wurden einige Tropfen 4 %iger Natr.-Nitroprussidlösung zugefügt, darauf einige Tropfen Ammoniak. Eine sofort eintretende Rotviolettfärbung galt als positiver Ausfall der Reaktion.

Versuch I.

250 g Hefe wurden mit 75 g Kristallzucker verrieben. Nach einiger Zeit trat Plasmolyse ein. Dieses Gemisch wurde 24 Stunden der Selbstgärung überlassen, dann filtriert.

Im Filtrat waren die Nitroprussid-Reaktion und die Schwefelwasserstoff-Reaktion positiv. Im Rückstande ebenfalls.

Auch nachdem das Filtrat mit 50 %igem Alkohol versetzt worden war, wobei ein Niederschlag entstand, zeigte das neue Filtrat eine schwache Nitroprussidreaktion, dagegen eine i. V.

bedeutend stärkere H_2S-Reaktion. Die Schwäche der Nitroprussidreaktion ist dadurch zu erklären, daß diese an sich bei Alkoholgegenwart verringert wird — Cystein, mit 100 %igem Alkohol versetzt, gibt keine Nitroprossidreaktion, geringes Ansäuern mit HCl bringt sie wieder hervor. — Die H_2S-Proben dagegen sind bei Alkoholanwesenheit empfindlicher, denn Schwefel wird durch Alkohol in geringem Maße gelöst und dadurch in innigere Berührung mit der reduzierenden Substanz gebracht.

Uebrigens gelang es, durch Behandlung des letzten Filtrates mit naszierendem Wasserstoff oder Na_2SO_3 die Reaktionen zu verstärken.

Versuch II.

250 g Hefe wurden mit 25 ccm Aether zur Plasmolyse gebracht und 24 Stunden der Eigengärung bei niederer Temperatur überlassen. Die so gewonnene Flüssigkeit wurde

1. unverdünnt filtriert. Das Filtrat ergab
   die Nitroprussidreaktion und H_2S-Reaktion positiv,
   mit $CuSO_4$ eine graue Trübung,
   mit $CuSO_4$ und einem Tropfen 4 %ig. Nitroprussidnatrium einen rostbraunen Niederschlag;
   eine negative Probe mit $FeCl_3$ und NaOH,
   eine positive Biuretreaktion.
   Fällte ich das Eiweis mittels Kochens aus, dann hatte ich im Filtrat wieder positive Farb- und Schwefelwasserstoffreaktionen. Der Rückstand zeigte auch nach sorgfältigem Auswaschen dasselbe Verhalten.
2. Mit Wasser āā. versetzt. Genau dasselbe Verhalten wie 1.
3. Mit 50 %igem Alkohol versetzt. Im Filtrat erhielt ich schwache Nitroprussid- und sehr starke H_2S.-Reaktion. Rückstand wie 1.

4. Mit Na_2SO_4 bei 34 ° und saurer Reaktion zur Eiweißfällung gesättigt, dann abfiltriert. Die klare Flüssigkeit zeigte negative Biuret-, dagegen positive Nitroprussid- und H_2S-Reaktionen.

Versuch III.

Zymin wurde mit Wasser zu einem Brei angerührt und diese Aufschwemmung filtriert. Das Filtrat ergab positive Eiweiß-, Nitroprussid- und Schwefelwasserstoffreaktion. Das Eiweiß wurde

a) zur Koagulation gebracht durch längeres Aufkochen. Das klare Filtrat zeigte deutlich positive Nitroprussid- und Schwefelwasserstoffreaktionen, ebenso das sorgfältig ausgewaschene Eiweißkoagulum, auch nach dem Trocknen;

b) zur Ausfällung gebracht mittels Sättigen mit Natriumsulfat. Auch hier zeigte das Filtrat positive Reaktionen, während die Biuret- und die Salpetersäureprobe auf Eiweiß negativ ausfielen. Der Filterrückstand ergab ebenfalls positive Proben.

Versuch IV.

Ein 50 % iges alkoholisches Extrakt aus 100 g Zymin zeigte im wesentlichen dieselben Verhältnisse wie Versuch III. Auch hier gelang es, durch Zinn-Salzsäure oder Natriumsulfit die Reaktionen wesentlich zu verschärfen.

Versuch V.

Zymin wurde mit dem mehrfachen Volumen Alkohol abs. angerührt. Das klare Filtrat zeigte ebenso wie der noch zweimal mit Alkohol ausgewaschene Rückstand positive Nitroprussid- und Schwefelwasserstoffreaktionen, erstere unter Berücksichtigung der oben erwähnten Reserven. Danach wurde

der Filterrückstand in Wasser aufgeschwemmt, filtriert und wiederum Filtrat und Rückstand auf beide Reaktionen untersucht; ich erhielt ein durchweg positives Ergebnis.

Diese Versuche zeigen, daß ein vollkommener Parallelismus besteht zwischen dem Reduktionsvermögen der Hefeextrakte wie des Zymins, gemessen an der Reduktion von S zu H_2S, und einem positiven Ausfall der Nitroprussidreaktion, die ja doch die Gegenwart von Sulfhydrylgruppen anzeigt. Ich schließe daraus, daß die Reduktion von Schwefel zu H_2S und gemäß den vorher gegebenen Erläuterungen auch die anderen von Hefftter zu einer Gruppe zusammengefaßten Reduktionsprozesse ganz wie in den tierischen Organen auch in der Hefezelle durch den labilen Wasserstoff des Sulfhydryls geleistet werden. Das Reduktionsvermögen erleidet durch Kochen nur geringen Verlust. Es ist gebunden an Eiweißkörper, die nach Erhitzen auf 100° noch wirksam sind, auch durch Fällung durch Alkohol oder Natriumsulfat ihre Aktivität nicht vollständig einbüßen. Außerdem aber findet sich auch in Hefesäften, welche die Biuretreaktion nicht mehr liefern, noch ein reduzierendes Agens, das eine positive Nitroprussidreaktion aufweist; ganz so, wie es V. Arnold für zahlreiche tierische Organe nachgewiesen hat. Dieser Körper scheint das Cystein zu sein, da andere organische Thiosäuren kaum, Schwefelwasserstoff und Schwefelalkalien nicht in Betracht kommen; außerdem habe ich ja in Versuch II wenigstens im Hefeplasmolysesaft die nach Arnold für Cystein spezifische Kupfersulfat-Nitroprussid-Reaktion erhalten, also sein Vorkommen in der Hefe überhaupt nachgewiesen.

Seitdem man sich, besonders angeregt durch die ausführlichen Arbeiten Buchners über die Zymasegärung, eingehender mit dem Prozeß der Alkoholgärung beschäftigt und die bei der Umwandlung von Traubenzucker in Kohlensäure und Alkohol auftretenden Zwischenprodukte zu fixieren sucht, ist von verschiedenen Seiten die Ansicht geäußert und zum

Teil bewiesen worden, daß der Gärprozeß in irgend einem Stadium eine reduktive Phase enthalten müsse.

Es wird nun künftigen Untersuchungen vorbehalten sein, zu erforschen, inwieweit die Sulfhydrylgruppe auch für die beim Gärprozesse statthabenden Reduktionsvorgänge dienstbar gemacht werden kann.

Literatur.

1. A. Heffter, Die reduzierenden Bestandteile der Zellen (Med. Naturw. Archiv I, 81. 1908).
2. Heffter-Hausmann, Ueber die Wirkung des Schwefels auf Eiweißkörper (Hofmeister, Beiträge zur Physiologie und Pathologie V, 213. 1904).
3. T. Thunberg, Die biologische Bedeutung der Sulfhydrylgruppe (Asher-Spiro, Ergebnisse der Physiologie. Wiesbaden 1911).
4. Gola, Lo Solfo e i suoi composti nell' economia delle plante (zitiert nach Thunberg, Asher-Spiro 1911).
5. W. Straßner, Die reduzierenden Wirkungen des Gewebes (Biochem. Zeitschrift Bd. 29, 295. 1911).
6. A. Bach, Zur Kenntnis der Reduktionsfermente (Biochem. Zeitschrift; I: Bd. 31,443; II: Bd. 33, 282; III: Bd. 38, 154).
7. V. Arnold, Eine Farbreaktion von Eiweißkörpern mit Nitroprussidnatrium (Hoppe-Seyler, Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 70, 300).
8. V. Arnold, Der Cysteingehalt tierischer Organe (Hoppe-Seyler, Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 70, 314).
9. M. Buchner, Die Zymasegärung. 1903.
10. de Rey-Pailhade, Ueber das Philothion. Bericht von Hefelmann (Chem. Centralblatt 1890 Bd. II, 682).
11. Pozzi-Escott, Etat actuel de nos connaissances sur les oxydases et les réductases. Paris 1902.

12. Neßler und Dumas, zitiert nach Kostytschew: Ueber Alkoholgärung I; siehe 14.
13. A. Palladin, Ueber die Beteiligung der Reduktase im Prozeß der Alkoholgärung (Hoppe-Seyler, Zeitschrift f. physiol. Chemie Bd. 56, 81).
14. S. Kostytschew, Ueber Alkoholgärung (Hoppe-Seyler, Zeitschrift f. physiol. Chemie; I: Bd. 79, 130; II: Bd. 79, 359; III: Bd. 83, 93).
15. M. Chowrenko, Ueber das Reduktionsvermögen der Hefe; Hydrogenisation des Schwefels bei der Alkoholgärung (Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 80, 253. 1912).

II.

Beiträge zur Kenntnis der Oxydation des Cysteins.

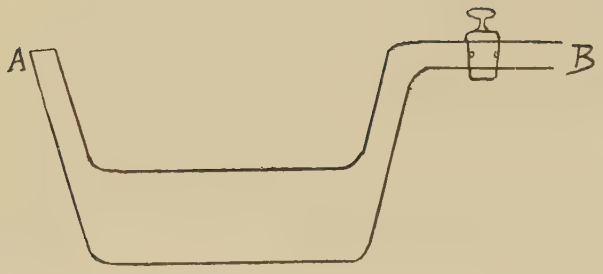
Wie ich schon in der vorhergehenden Arbeit „Die reduzierende Substanz in der Hefe“ ausführte, spielt im biochemischen Prozeß der Zelle die im Proteinmolekül vorhandene Sulfhydrylgruppe scheinbar eine bedeutsame Rolle; man schreibt ihr einen Teil wenigstens der reduzierenden Eigenschaften des Protoplasmas zu und vermutet, daß sie auch am Respirationsprozesse der Gewebe teil hat. Sie ist, so nimmt man an, an merkaptanartige Thiokörper gekettet, die ihrerseits Gruppen des Eiweißmoleküls — und zwar besonders reaktionsfähige — darstellen. Speziell im Cystein sieht Hefter den Prototyp eines solchen, im Protoplasma vorhandenen, chemisch aktiven Thiokörpers, der vermöge seiner Autoxydabilität (Uebergang in Cystin) reaktionsfähig ist.

Zwei Chicagoer Forscher, Matthews und S. Walker, untersuchten 1909 das Cystein (die α-Amino-β-Thiomilchsäure nach Friedemann) näher auf sein chemisches Verhalten hin, im besonderen beobachteten sie seine Oxydationsgeschwindigkeit unter den mannigfachsten Bedingungen. Sie kamen dabei zu folgendem Ergebnisse: in Flüssigkeiten verschiedener Reaktion geprüft, zeigt es sich, daß die Spontan-Oxydation des Cysteins „mit meßbarer Geschwindigkeit allein innerhalb der Neutralitätsgrenzen stattfindet, die sich vom Neutralpunkte für Alizarin bis über den Neutralpunkt für Phenolphthalein hinaus erstrecken“. Das Optimum liegt bei der dem Blute oder Protoplasma eigenen Reaktion des Lösungsmittels, id est bei einer OH-Ionen-Dissoziation von 10^{-8}; da-

bei soll empfindliches rotes Lakmuspapier blauviolett gefärbt werden. Salze der Cyanwasserstoffsäure und Nitrile sind imstande, auch in verschwindenden Dosen hemmend auf die Oxydation des Cysteins einzuwirken (so wird noch durch 0,35 mg KCN die Oxydationsgeschwindigkeit von 2 g Cystein in der ersten Stunde um 50 % verlangsamt), ähnlich wie sie auch die tierischen Gewebe dadurch schädigen, daß sie die Atemtätigkeit toxisch beeinflussen, indem sie den Schwefel binden. Endlich vermögen auch gewisse Metalle und Metalloide — wenn nur in Spuren vorhanden — Kupfer, Eisen, Arsen, die sich vielleicht auch in der Zelle beim Oxydationsprozesse katalysatorisch betätigen, die Oxydation des Cysteins zu beschleunigen, während andere, für die lebende Zelle giftige Substanzen, wie Zink, Blei, Nickel, Kobalt, Cadmium, hemmend wirken. Diese von Matthews und S. Walker erhobenen Befunde zeigen in mehreren Punkten eine deutliche Uebereinstimmung zwischen dem Atemprozesse der Gewebe und der Oxydation des Cysteins, so daß die genannten Autoren daraus ein Recht herleiten, im Cystein eine für die ganze Biologie der Zelle wichtige Substanz zu sehen.

Um diesem interessanten Verhalten des Cysteins weiter nachzugehen, wurden von mir die im folgenden beschriebenen Versuche angestellt, wobei ebenfalls die Oxydationsgeschwindigkeit des Cysteins unter den verschiedensten Bedingungen vergleichend gemessen wurde. Kommt dem Cystein wirklich eine für die Biologie der Zelle so wichtige Rolle zu, dann müssen sich ja noch weitere Parallelen zwischen der Zellatmung und der Oxydation des Cysteins ergeben, unter der Einwirkung verschiedener äußerer Einflüsse beobachtet.

Die Versuchsanordnung war folgende: In einen Thermostaten tauchten zwei Glasbehälter etwa von der Form sogenannter Liebigscher Enten (Trockenröhren, siehe beigefügte Figur) von ca. 275 ccm Inhalt. In A konnten sie durch einen Glasstopfen luftdicht verschlossen werden, in B standen sie mit je einer Hempelschen Gasbürette, die als Wasser-


A
B

manometer diente, in Verbindung. In den Verbindungsschlauch war ein T-Stück eingeschaltet. Die Enten selbst waren an einem beweglichen Hebelarm aufgehängt, der durch einen Gasmotor in schüttelnde Bewegung versetzt wurde. Die durch einen Tourenzähler kontrollierte Tourenzahl dieses Motors betrug ziemlich konstant 300 Umdrehungen in der Minute. Da die Oxydation des Cysteins zu Cystin ohne Gasentwicklung vor sich geht, konnte die Absorption im aufsteigenden Schenkel der Bürette direkt ein Maß für den Vrbrauch des Sauerstoffs im Oxydationsprozeß sein. Der Wasserstand in beiden Schenkeln der Bürette wurde durch jeweiliges Nachfüllen in den offenen Schenkel möglichst auf gleichem Niveau gehalten, so daß die Luft im andern Schenkel und in der Ente immer unter gleichmäßigem Drucke, dem (für die Dauer des Versuches konstanten) Barometerdrucke stand.

Das Cystein wurde nach einem von Matthews und S. Walker und W. Denis für Cystin angegebenen Verfahren aus Roßhaaren hergestellt; es war also nach Hefftter das konstantere, aber auch weniger reaktionsfähige l-Cystein, 1 kg Roßhaare lieferte ca. 54 g Cystin. Das Cystin wurde als salzsaures Salz aufbewahrt und vor jedem Versuche die entsprechende Menge mit N-Kalilauge neutralisiert. Um die von Matthews und S. Walker (schon oben) angegebene optimale Reaktion des Lösungsmittels zu erreichen, wurden auf 1 g HCl-Cystein ca. 7,0 ccm NKOH gebraucht; theoretisch erfordern 1 g HCl-Cystein zu genauer Neutralisation 6,35 N KOH. In allen Versuchen wurde 1 g Cystein in 50 ccm Flüssigkeit gelöst; die Versuchsdauer betrug 3 Stunden, der Stand der Bürette wurde alle 20 Minuten abgelesen.

Eine genaue Wiederholung der Prüfung dieser von Matthews und S. Walker angegebenen Abhängigkeitsverhältnisses der Oxydationsgeschwindigkeit von der Reaktion wurde im einzelnen nicht vorgenommen, doch bestätigen die Versuche der Tab. 1, daß das Optimum der Reaktion in der Nähe des Neutralitätspunktes liegen muß. Damit ist die äl-

tere, von Baumann geäußerte Meinung, daß die Oxydationsgeschwindigkeit des Cysteins sich mit der Zunahme der Alkalessenz erhöht, hinfällig geworden, während man in den Befunden von Battelli und Stern insofern eine Parallele finden kann, als auch für die Respiration überlebender Organe diese leichte Alkalessenz des Lösungsmediums sich als die günstigste erwiesen hat.

Es wurde nun der Einfluß der Temperatur auf die Oxydationsgeschwindigkeit untersucht. Biologische Prozesse zeigen diese Abhängigkeit gewöhnlich insofern, als bis zu einem gewissen Punkte zunehmende Temperatur auch zunehmende Steigerung der Zelltätigkeit bewirkt; höhere Temperaturen schädigen das Gewebe, beeinflussen also die biologische Tätigkeit in ungünstigem Sinne. Im Kreuzungspunkte beider, dies veranschaulichen die Kurven, liegt das für biologische Prozesse charakteristische Temperatur-Optimum. Die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Temperatur findet innerhalb enger Grenzen bis zum Optimalpunkte ihren Ausdruck in der sowohl auf Einzelreaktionen wie auf komplizierte Reaktionssysteme anwendbaren van't Hoffschen RGT-Regel, d. h. Zunahme der Temperatur um 10 ° beschleunigt den Ablauf biochemischer Prozesse um das 2—3 fache ($Q_{10} = 2—3$). Die auf Fig. 2 graphisch dargestellten Kurven zeigen aber, daß für die Oxydation des Cysteins diese Abhängigkeit von der Temperatur nicht besteht. Auch liegt die optimale Temperatur nicht, wie sonst für gewebliche Oxydationsprozesse, zwischen 38 und 40 °, sondern es wächst — innerhalb des untersuchten Temperaturintervalles wenigstens — die Oxydationsgeschwindigkeit in gewisser Progression mit der Temperaturerhöhung, wie bei gewöhnlichen exothermischen chemischen Prozessen.

Auffallend ist in den dargestellten Kurven die Erscheinung, daß trotz abnehmender Tension des Sauerstoffs in dem hermetisch verschlossenen Systeme (bei etwa 300 ccm Luft und einer Sauerstoffabsorption von 30 ccm um ca. 50 % !) sich dies

kaum oder gar nicht durch ein Abflachen der Oxydationskurven ausdrückte. Ich vermutete, daß die Konzentrationsänderungen — Cystin fällt ja als in Wasser unlöslich aus — diesen Einfluß paralysieren würde. Die in Fig. 3 wiedergegebenen Versuche bestätigen das; Cystein, i. V. 0,5 : 100 oder 1 : 100 in Wasser gelöst, zeigt eine viel steilere Oxydationskurve als bei einem Konzentrationsverhältnis von 1 : 50; bei einer Konzentration dagegen von 2 : 50 läßt sich eine außerhalb der Fehlergrenze liegende Hemmung nicht nachweisen.

Daß in reiner Sauerstoffatmosphäre eine Beschleunigung der Oxydation eintreten würde, war vorauszusehen, denn dann laufen ja alle auf Sauerstoffaufnahme beruhenden Prozesse, biologische wie rein chemische, schneller ab. Versuch 12 zeigt dies, beweist aber nichts besonderes.

Es wurde dann der Einfluß verschiedener tierischer Gewebe auf die Oxydationsgeschwindigkeit des Cysteins untersucht, denn schon Heffter und Strassner hatten angenommen, daß die Sulfhydrylgruppe im allgemeinen und Cystein im besonderen in ihrer chemischen Aktion beeinflußt werden durch Stoffe katalytischer Natur, die in den Zellen vorhanden sind. Die Natur dieser Beeinflussung einerseits, die der Katalysatoren andererseits zu erforschen schien recht lohnend.

Ueber den Einfluß des Blutes auf die Gewebsatmung isolierter Organe existieren verschiedene Arbeiten. Sowohl Battelli und Stern wie Harden und Maclean kommen zu der Annahme, daß Blut den Gaswechsel isolierter überlebender Organe um ein bedeutendes zu vermehren vermag, besonders wenn es i. V. 1 : 2,5 dem Gewebe zugesetzt wird. Das gilt nach Battelli und Stern sowohl bezüglich der „Hauptatmung“ wie auch für die „akzessorische Atmung“, wenn auch der Einfluß des Blutes auf die letztere weniger konstant und augenscheinlich ist. Auf der Suche nach der wirksamen Substanz im Blute finden sie: es ist nicht das

„Pnein", da das wirksame Prinzip nicht wie dieses dialysierbar ist, ferner durch Kochen zerstört wird. Gewaschene rote Blutkörperchen besitzen dasselbe oder sogar ein noch stärkeres Vermögen, den Atemprozeß der Gewebe zu erhöhen. Das Serum ist inaktiv, wenn es nicht sogar manchmal hemmend wirkt. Die Beschleunigung ist nicht an die Integrität der roten Blutkörperchen gebunden, auch hämolysierte Erythrocyten haben dieselbe Wirkung. Die genannten Autoren zeigen, daß das kristallisierte Hämaglobin der Aktivator der Oxydation ist; es wirkt so, wie eine Tensionssteigerung des Sauerstoffs. Damit war ein Weg gewiesen, auf dem sich die Untersuchung zu bewegen hatte, um den Einfluß des Blutes auf die Oxydation des Cysteins zu studieren. Von zahlreichen nach dieser Richtung hin unternommenen Versuchen seien einige in Fig. 4 dargestellt. Sie zeigen, daß die Oxydation des Cysteins durch Blut begünstigt wird. Die Wirkung des Serums ist inkonstant, in manchen Fällen gleich Null, in anderen Fällen wieder bewirkt es deutliche Hemmung. Der beschleunigende Bestandteil liegt also in den Erythrocyten; gewaschene rote Blutkörperchen haben denselben Einfluß wie Blut selbst (17). Auch ist die Wirkung nicht an die Erhaltung der Struktur der Erythrocyten gebunden, auch eine Blutkörperchenauflösung (Versuch 18) in destilliertem Wasser hat denselben Erfolg.

Ich schließe daraus, daß ähnlich wie in den Battelli-schen Versuchen auch hier das Hämoglobin als Aktivator funktioniert. Um zu zeigen, daß die hemmende Wirkung des Serums (soweit vorhanden) nicht auf dessen vermehrter Viscosität oder der Anwesenheit von Kolloiden beruht, sondern spezifisch sein muß, wurden einige Kontrollversuche ausgeführt: eine Lösung von gekochtem Gummi arabicum — die oxydierenden Fermente sind dann zerstört — von Glyzerin oder von Eiereiweiß hatte, wenn sie nicht gar zu konzentriert war, gar keinen Einfluß.

Dann kam eine größere Zahl von tierischen Organen und Organextrakten zur Untersuchung. Die Organe des durch Verbluten getöteten Tieres wurden fein zerhackt und entweder so-

fort oder nach längerem Aufbewahren im Eisschrank verarbeitet. Die Organextrakte wurden so hergestellt, daß das feingehackte Gewebe mit dem 2,5-fachen Volumen physiolog. Kochsalzlösung im Mörser verrieben wurde; dieser Brei wurde darauf durch ein Leinentuch gepreßt und zentrifugiert. Sowohl das wässerige Extrakt wie die Organrückstände kamen zur Untersuchung. Aus der großen Zahl der Versuche seien einige in den Fig. 5 und 6 wiedergegeben. Sie lassen alle mit deutlicher Uebereinstimmung die merkwürdige und unerwartete Tatsache erkennen, daß ein Hinzufügen von Geweben und Gewebeextrakten auf die Oxydationsgeschwindigkeit des Cysteins absolut keinen Einfluß hat.

Daß die Meyer-Overtonsche Narkosetheorie, die ja eine Abhängigkeit der Wirksamkeit der Narkotika von ihrem Teilungskoeffizienten zwischen Lipoid- und Wasserlöslichkeit annimmt, noch lange keine Erklärung des Wesens der Wirkung dieser Substanzen bedeutet, ist bekannt. Es sind verschiedene Hypothesen aufgestellt, die den eigentlichen Angriffspunkt der Narkotika feststellen wollen. Eine Anzahl von Forschern kommt zu dem Schluß, daß auf irgendeine Weise die Oxydationsprozesse der Zelle gelähmt werden und daß die Wirkung der Narkotika in den sauerstoffbedürftigsten Organen auch die intensivste sei. Auch Winterstein, der in einer kürzlich erschienenen Arbeit speziell die Beeinflussung der „anoxybiotischen Spaltungen“ durch die Narkotika annimmt, und die Oxydationshemmung in der Narkose nur als einen Teil des viel allgemeineren Problemes der Narkose überhaupt angesehen wissen möchte, gibt doch ebenfalls eine Schädigung der Zellrespiration zu: „durch die Narkose sind die oxybiotischen Prozesse auch bei maximalem Sauerstoffbedarf gehemmt“. Battelli und Stern finden an isolierten überlebenden Organen ebenfalls eine Beeinträchtigung des Gaswechsels durch die Narkotika. Chloroform hemmt etwa zweimal stärker als Aether, Chloralhydrat ist noch in N/30 Konzentration wirksam, dagegen Alkohol erst in einer Konzentration von 2 N.

Da man nun das Cystein mit der Oxydation in den Zellen in Beziehung gebracht hat, konnte man annehmen, daß die Narkotika auch die Oxydationsgeschwindigkeit des Cysteins vermindern würden. Es wurden nach dieser Richtung hin untersucht Alkohol, Chloroform, Paraldehyd und Chloralhydrat. Es zeigte sich, daß Chloroform und Paraldehyd gar keine Wirkung auf den Oxydationsprozeß haben, und Alkohol, selbst in großen Mengen hinzugefügt, auch kaum. Chloralhydrat hemmte immer stark. Wurde aber die Reaktion der Flüssigkeit am Ende des Versuches geprüft, so stellte es sich heraus, daß diese deutlich sauer war, während vorher auch nach Hinzufügen des an sich in wässeriger Lösung schwach sauer reagierenden Chloralhydrates eine deutliche, leicht alkalische Reaktion herrschte. Diese Umstimmung der Reaktion ist vermutlich nicht auf einen chemischen Prozeß zwischen Chloralhydrat und Cystein zurückzuführen, sondern erklärt sich einfach aus der eigentümlichen Unbeständigkeit des Chloralhydrates in wässeriger Lösung, in der es die Neigung hat, Salzsäure abzuspalten oder in Trichloressigsäure sich umzusetzen. Schüttelte ich 3 g Chloralhydrat, gelöst in 50 ccm Wasser, mehrere Stunden bei 37 °, dann konnte ich am Ende des Versuches eine geringe Trübung dieser Lösung mit Silbernitrat erhalten, während vor Beginn des Versuches die Flüssigkeit nach Zusetzen von Silbernitrat absolut klar blieb. — Diese Versuchsreihe zeigt deutlich, daß die Narkotika keinen Einfluß auf die Oxydation des Cysteins haben, während sie doch die respiratorischen Vorgänge der Gewebe deutlich beeinblussen. Wie nun nicht weiter wunderbar, verhielten sich auch Antiseptika, wie Toluol und Karbolwasser, vollständig inaktiv.

Von spezifischen Zelltoxinen wurde allein das Arsen einer näheren Betrachtung unterzogen.

Battelli und Stern stimmen insofern mit früheren Autoren wie Loew, Nobbe, Knop überein, als auch sie finden, daß Arsensäure eher einen begünstigenden Einfluß auf den Atemprozeß überlebender Organe hat, ähnlich wie sie es

vom Dinatriumphosphat angeben, während arsenige Säure sich als ein Atemgift erwies, welches noch in Konzentrationen von 1 : 100 000 schädigen kann. Uebrigens finden Battelli und Stern ein leichtes Uebergehen von arseniger Säure in Arsensäure und umgekehrt in ihren Versuchen keineswegs bestätigt.

Matthews und S. Walker, welche besonders die pharmakologische Seite der Arsenwirkung betonen und dem Arsen eine allgemeine Steigerung der Zelltätigkeit zuschreiben, behaupten, daß es auch die Oxydationsgeschwindigkeit des Cysteins steigere. Sie zeigen dies in einem Versuche, in welchem sie durch 0,01 As_2O_3 oder As_2O_5 (?) in 95 Minuten die Oxydationsgeschwindigkeit des Cysteins um ca. 100 % beschleunigt finden.

Ich habe nun sowohl Natriumarsenit wie Natriumarseniat in verschiedener Konzentration auf Cystein einwirken lassen, aber immer erhielt ich ein negatives Ergebnis, d. h. keine Beeinflussung des Oxydationsprozesses. Durch Natriumarseniat hätte man insofern eine Verminderung der Sauerstoffabsorption erwarten können, als ja nach Hefftters Angabe die Sulfhydrylgruppe Arsensäure in arsenige Säure zu reduzieren vermag. Es wäre daher wenigstens in der ersten Zeit des Versuches der Sauerstoff der Arsensäure zum Oxydationsprozeß verbraucht worden, was sich in einer Verzögerung der Absorption im aufsteigenden Schenkel der Bürette kundgetan hätte. Davon war keine Rede; ob tatsächlich arsenige Säure gebildet wurde, wurde nicht geprüft.

Auch die von Battelli und Stern für Dinatriumphosphat hinsichtlich des Oxydationsprozesses in den Zellen angegebene verstärkende Wirkung blieb dem Cystein gegenüber aus.

Diese Versuche zeigen, daß die Oxydation des Cysteins zu Cystin in keinerlei Beziehung zum Atemprozesse steht. Die Bedingungen, unter denen die Bildung von Cystin und die Oxydation in den Zellen statthaben, zeigen keinerlei Gemein-

samkeit, im Gegensatze zu den Befunden von Matthews und S. Walker und den Erwartungen, die man an diese Substanz glaubte stellen zu dürfen, nachdem man ihr im Atemprozesse der Zelle eine so bedeutende Rolle zugesprochen hatte. Damit soll aber die Bedeutung der Sulfhydrylgruppe in der Zellbiologie noch nicht geleugnet werden, denn die SH-haltigen Eiweißkörper können ja ein ganz anderes chemisches Verhalten zeigen als das Cystein.

Zusammenfassung.

Im Cystein glauben Matthews und S. Walker eine für den Respirationsprozeß der Zelle wichtige Substanz zu sehen. In verschiedener Hinsicht fanden sie eine Parallele zwischen der Oxydation des Cysteins zu Cystin und der Zellatmung. Demgegenüber komme ich zu folgenden Ergebnissen:

1. Die Oxydation des Cysteins ist ein rein chemischer Vorgang, unabhängig von biologischen und speziell für den zellulären Atemprozeß gültigen Gesetzen.

2. Das Optimum der Oxydation des Cysteins liegt bei einer neutralen oder leicht alkalischen Reaktion des Lösungsmittels.

3. Mit zunehmender Temperatur wächst die Geschwindigkeit der Oxydation, jedoch nicht in der Weise, daß van't Hoffs RGT-Regel darauf Anwendung finden könnte. Das Temperaturoptimum liegt nicht wie dasjenige des Atemprozesses bei 38—40 °.

4. Die Konzentration der wässerigen Lösung des Cysteins und die Oxydationsgeschwindigkeit stehen in umgekehrtem Verhältnis zu einander.

5. In reinem Sauerstoff ist die Beschleunigung eine beträchtliche.

6. Von tierischen Organen hat allein das Blut eine ebenfalls beschleunigende Wirkung; im Hämoglobin ist das beschleunigende Prinzip zu erkennen. Serum ist ohne Einfluß

oder hemmt sogar. Die andern — blutleeren — Organe und Organextrakte sind vollständig inaktiv.

7. Auch die Narkotika, die doch den Atemprozeß stark hemmen, beeinflussen die Oxydation des Cysteins in keiner Weise. Nur Chloralhydrat hemmt indirekt insofern, als es infolge Zersetzung der Lösung allmählich eine saure Reaktion gibt, durch welche die Oxydation des Cysteins lahmgelegt wird.

8. Arsenite und Arseniate, ebenso Natriumphosphat lassen den Oxydationsprozeß unbeeinflußt.

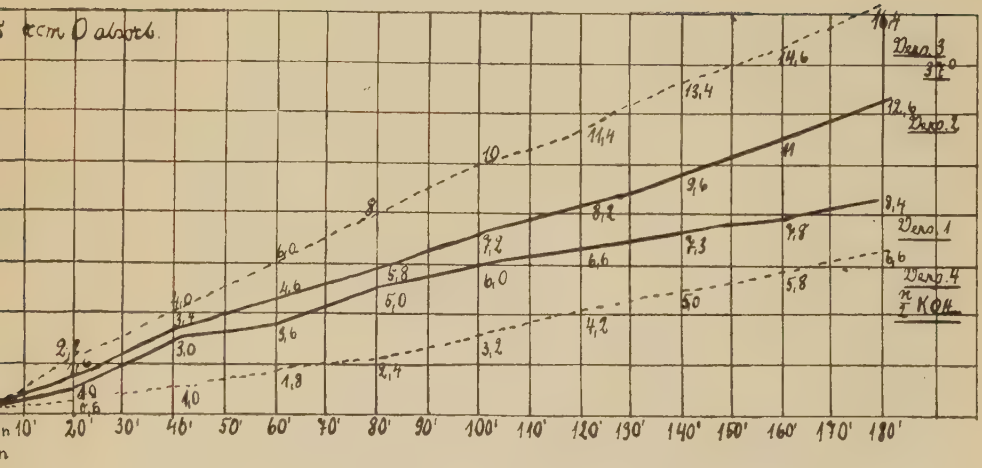
9. Antiseptika wie Toluol und Karbol sind ebenso indifferent.

Literatur.

1. A. Heffter, Die reduzierenden Bestandteile der Zellen (Med. Naturw. Archiv I, 81. 1908).
2. E. Friedmann, Ueber die Konstitution des Cystins (Hofmeister, Beiträge zur Physiologie und Pathologie Bd. III, 1. 1903).
3. P. S. Matthews und S. Walker, The spontaneous Oxidation of Cystein (Journal of Biological Chemistry Bd. VI, 21. 1909).
4. P. S. Matthews und S. Walker, The action of Cyanides and Nitriles on the spontaneous oxidation of Cystein (Journ. of Biol. Chem. Bd. VI, 29. 1909).
5. P. S. Matthews und S. Walker, The action of metals and strong salt solutions on the spontaneous oxidation of Cystein (Journ. oft Biol. Chem. Bd. VI, 299. 1909).
6. W. Denis, Journal of Biological Chemistry Bd. IX, 365. 1911.
7. Baumann, Ueber Cystin u. Cystein (Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. VIII, 299. 1883—84).
8. Harden und Maclean, Animal Tissues Oxidation (Journal of Physiologie Bd. 53).

9. Battelli et Stern, Recherches sur la respiration élémentaire des tissus (Journal de Physiologie et Pathologie générale IX, 1, und Abderhalten, Handbuch d. biochem. Arbeitsmethoden Bd. III, 468. 1910).
10. Battelli et Stern, Recherches sur l'activité respiratoire (Journal de Physiol. et Pathol. Bd. IX, 34. 1907).
11. Battelli et Stern, Action de quelques substances sur l'activité respiratoire des tissus isolés (Journal de Physiol. et Pathol. Bd. IX, 228).
12. Battelli et Stern, Recherches sur la conservation de l'activité respiratoire dans les différents tissus animaux après la mort (Journal de Physiol. de Pathol. Bd. IX, 410).
13. Battelli et Stern, Recherches sur la respiration principale et la respiration accessoire des tissus animaux (Société de Biologie Bd. 66, 372. 1909).
14. Battelli et Stern, Die akzessorische Atmung in den Tiergeweben (Biochem. Zeitschr. Bd. 28, 487).
15. Battelli et Stern, Zur Kenntnis des Pneins (Biochem. Zeitschr. Bd. 35, 315).
16. H. Winterstein, Kritische Uebersicht über die Beziehungen zwischen Narkose und Sauerstoffatmung (Biochem. Zeitschr. Bd. 51, 143. 1913).
17. Loew, Nobbe und Knop, zitiert nach Battelli und Stern ; siehe 11.

Fig. 1: Einfluß der Reaktion.



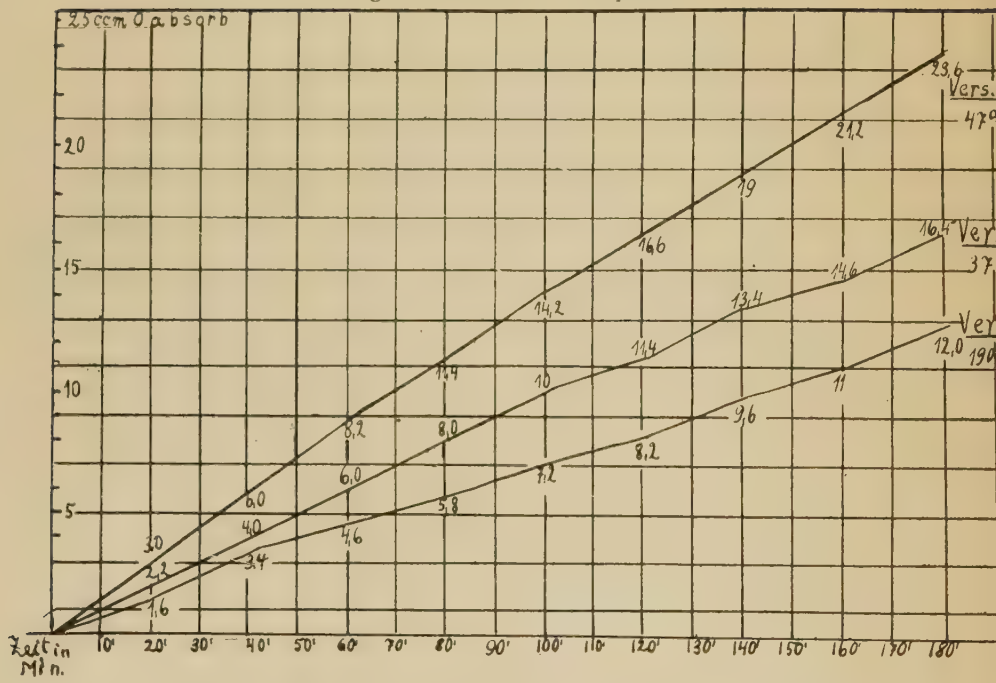
Vers. 1: 1 g Cystein: 50 H_2O neutral. mit 5,5 NKOH. Reaktion bl. Lakmusp. wird rotviolett. Wasserbad 19°, Luft 19°. Barom.776,2.

Vers. 2: 1 g Cyst.: 50 H_2O. Reakt. leicht alkalisch. Wasserbad 17°, Luft 17°, Barom. 775,6.

Vers. 3: 1 g Cyst.: 50 H_2O; „ „ „ „ 36,7°, Luft 16,8°, Barom. 775,5.

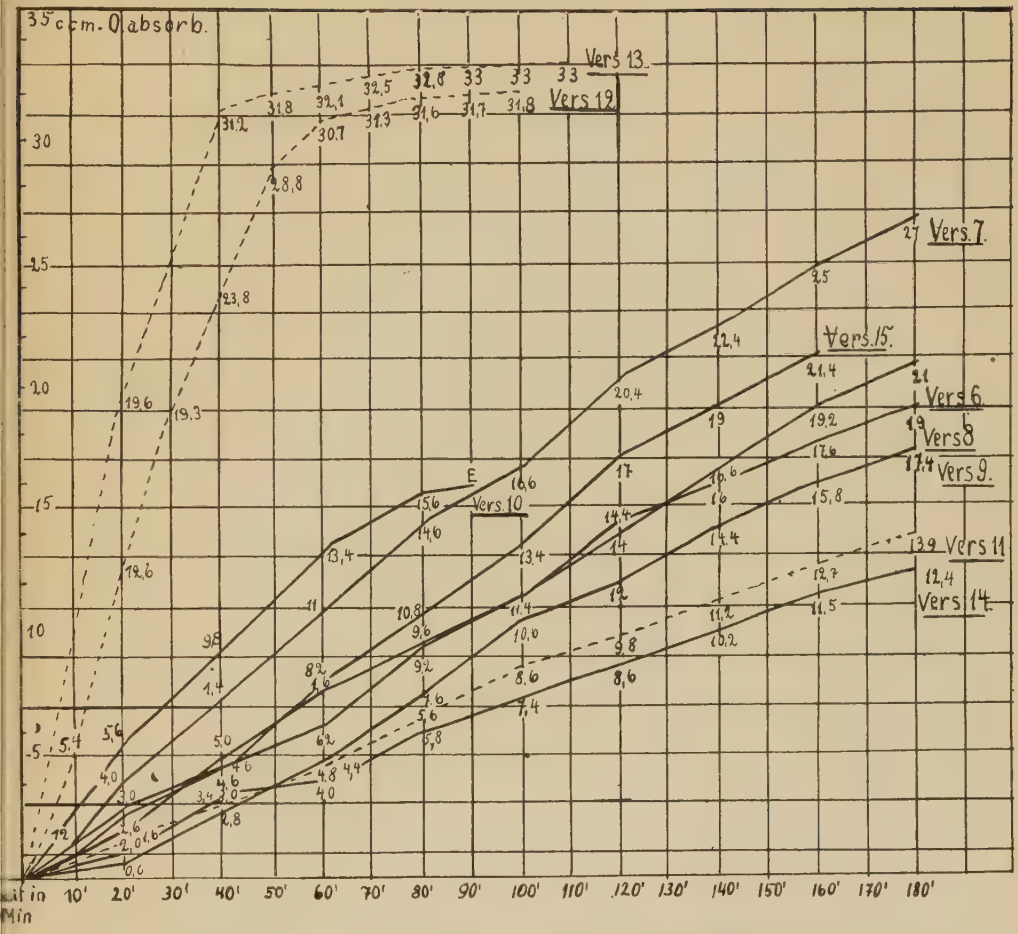
Vers. 4: 1 g Cyst. in 50 ccm $\frac{N}{2}$ KON Wasserbad 36,6°, Luft 18,2°, Barom. 776,3.

Fig. 2: Einfluß der Temperatur.



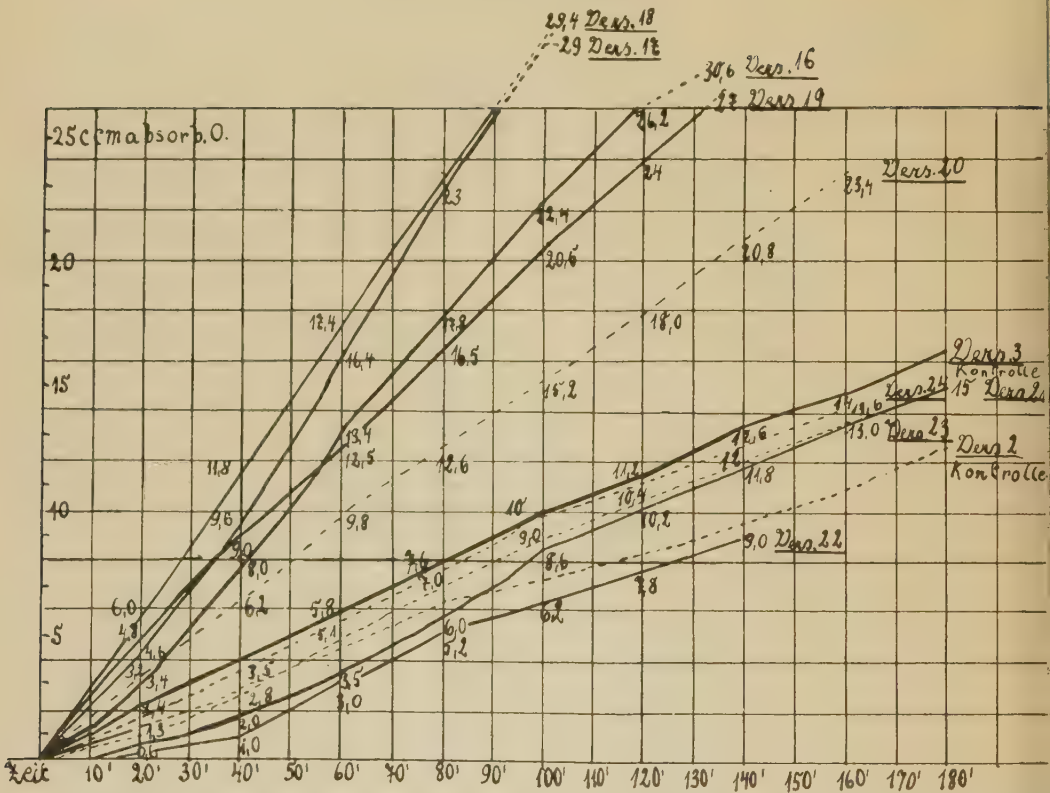
Vers. 5: 1 g Cyst.: 50 H_2O. Reaktion leicht alkalisch. Wasserbad 48°, Luft 20°, Barom. 776.

Fig. 3: Einfluß d. Konzentration.



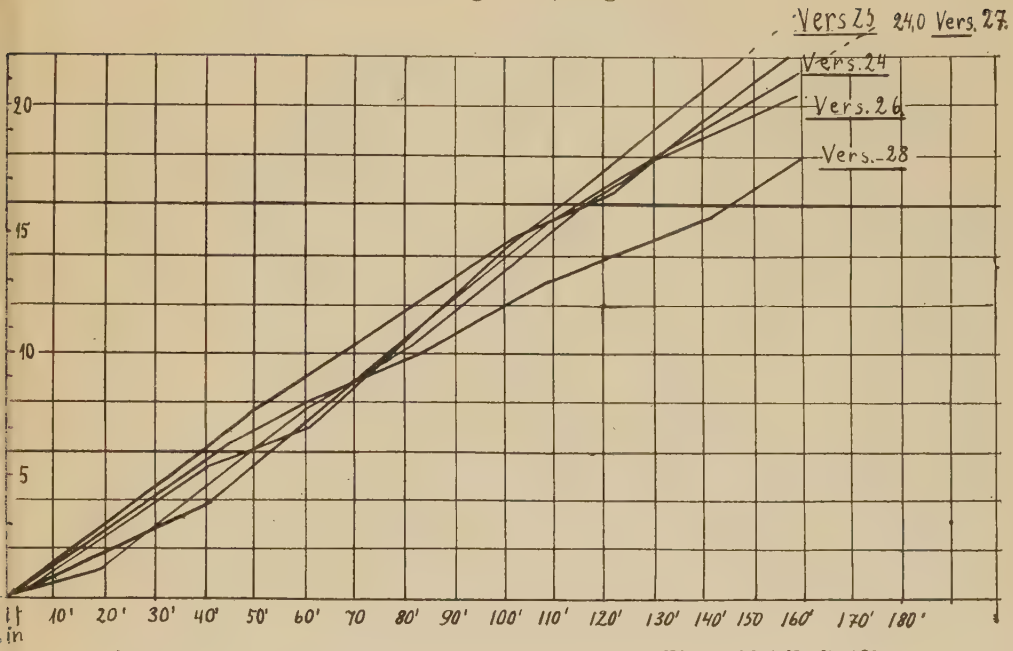
Vers. 6: 1 : 50 Cystein. Reaktion leicht alkal. Wasserbad 36,5°, Luft 18°, Barom. 776,0.
Vers. 7: 1 : 100 Cyst. „ „ „ „ 36,7° „ 17°, „ 776,1.
Vers. 8: 2 : 50 Cyst. „ „ „ „ 36,7° „ 17°, „ 776,1.
Vers. 9: 2 : 50 Cyst. „ „ „ „ 36,4°, „ 17,8°, „ 775,7.
Vers. 10: 0,5 Cyst. : 100 „ „ „ „ 36,6°, „ 20°, „ 774,7.
Vers. 11 : 1 g Cyst. : 50 H_2O „ „ „ „ 17,7°, „ 19°, „ 775,6.
Vers. 12: 1 g Cyst.: 50 H_2O. In Sauerstoffatmosphäre. Wasserbad 20°, Luft 19,5°, Barom. 776,5
Vers. 13: 1 g Cyst.: 50 H_2O. „ „ „ 36,7° „ 19,5,°, „ 776.
Vers. 14: 1 g Cyst.: 50 H_2O. Reaktion leicht alkal. Wasserbad 36,8°, Luft 17,4°, Barom. 775,4
Vers. 15: 1 g Cyst.: 100 H_2O. „ „ „ „ 36,4° „ 18° „ 774,6

Fig. 4: Einfluß d. Blutes.



Vers. 16: 1 g Cyst.: 30 H_2O + 20 ccm defibrin. Hammelblut. Wbd. 36,7°. Luft 16,8°, Barom. 775,5
Vers. 17: 1 g Cyst.: 30 H_2O + 20 ccm Erythrocyten (Hammel) in NaCl. Wbd. 36,7°, Luft 19,5° Barom. 775,3,
Vers. 18: 1 g Cyst.: 30 H_2O + 20 ccm hämolysierte Erythrocyten. Wbd. 36,5°, Luft 18,5°, Barom. 774,
Vers. 19: 1 g Cyst.: 30 H_2O + 20 ccm 5 % Erythrocyt. in NaCl. Wbd. 36,4°, Luft 21°, Barom. 770.
Vers. 20.: 1 g Cyst: 30 H_2O + 20 ccm Erythrocyten (Kaninchen) ger. in NaCl. Wbd. 17° Luft 17°, Barom. 775,0.
Vers. 21: 1 g Cyst.: 30 H_2O + 20 ccm Hammelserum. Wbd. 36,4° Luft 17,8°, Barom 774,5
Vers. 22: 1 g Cyst. 30 H_2O + 29 ccm Kaninchenserum. Wbd. 36,4°. Luft 18°, Barom. 775.
Vers. 23: 1 g Cyst.: 30 H_2O + 20 ccm starke Lsg. Gummi arab. gekocht. Wbd. 36,7°, Luft 15,8° Barom. 775,5.
Vers. 24: 1 g Cyst.: 47 H_2O + 3 ccm geschüttelt. Hühnereiweiss. Wbd. 36,5°. Luft 17°, Barom. 775,9
Vers. 2 s. Fig. 1; Vers. 3 s. Fig. 1.

Fig 5: Einfluß v. Organen + Organextrakten.



Vers. 24: 1 g Cyst.: 50 H_2O. Kontrollversuch. Wbd. 36,5 Luft 18° Barom. 776,1

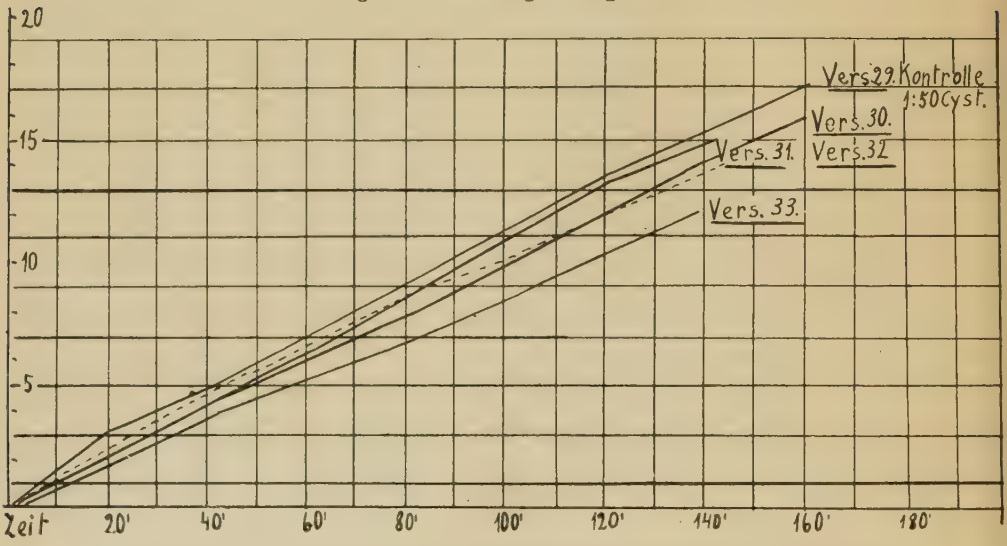
Vers. 25: 1 g Cyst.: 50 H_2O + 2 g Leberbrei (Kaninch.). Wbd. 36,5° Luft 17° Barom. 776.

Vers. 26: 1 g Cyst.: 30 H_2O + 20 ccm Pferdemuskelextrakt. Wbd. 36,4 Luft 18,8° Barom. 776,8.

Vers. 27: 1 g Cyst.: 30 H_2O + 20 ccm Kaninchenleberextr. Wbd. 36,7° Luft 18,5° Barom. 775,5.

Vers. 28: 1 g Cyst.: 50 H_2O + 3 g Kaninchenmuskelbrei. Wbd. 36,6° Luft 18,3° Barom. 776,4.

Fig. 6: Einwirkung v. Organen.



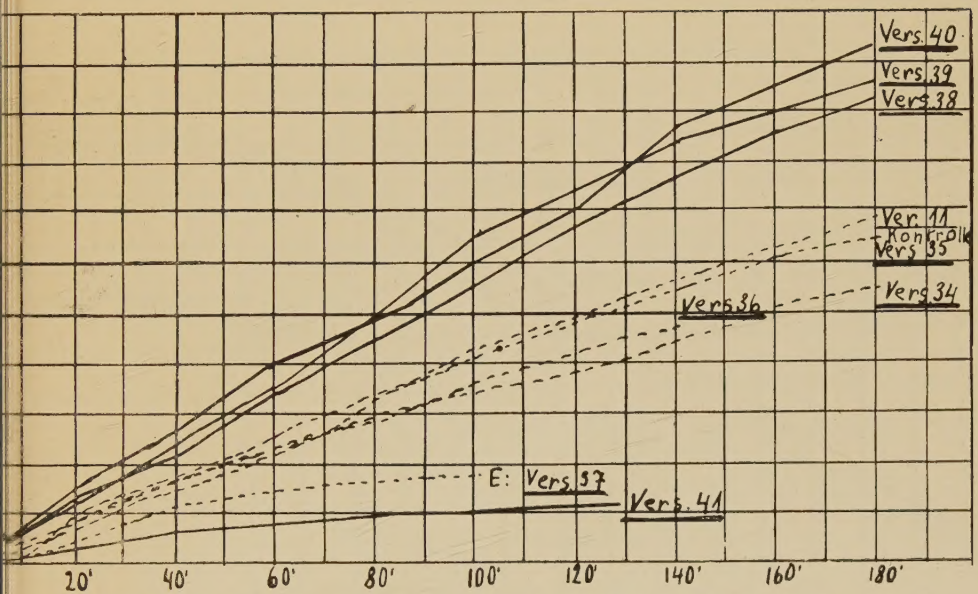
Vers. 30: 1 g Cyst: 50 H_2O + 3 g Kanin.-Leberrückstand. Wbd. 36,5° Luft 18° Barom. 776,3.

Vers. 31: 1 g Cyst: 50 H_2O + 2,5 g Nierenbrei, Frisch. Kaninchen. Wbd. 36,5° Luft 19,2° Barom. 776,2.

Vers. 32: 1 g Cyst: 30 H_2O + 20 ccm Meerschw. Leberextrakt. Wbd. 30,5° Luft 18,8° Barom. 776,4.

Vers. 33: 1 g Cyst: 50 H_2O + 3 g Muskelbrei Kaninchen + 5 ccm Kan. Serum. Wbd. 36,4° Luft 21,5° Barom. 777,8.

Fig. 7. Einfluß d. Narkotika.



Vers. 34: 1 g Cyst.: 50 H_2O + 0,5 ccm Chloralhydrat. Wbd. 17,2°, Luft 17°, Barom. 776,3.

Vers. 35: 1 g Cyst.: 50 H_2O + 1,0 ccm Paraldehyd. Wbd. 16,6°, Luft 17°, Barom. 776,1.

Vers. 36: 1 g Cyst.: 35 H_2O + 15 ccm Aqua chloroform. Wbd. 16,6°, Luft 17°, Barom. 776,1.

Vers. 37: 1 g Cyst.: 50 H_2O + 1,5 g Chloralhydrat. Wbd. 18°, Luft 17°, Barom. 776,1.

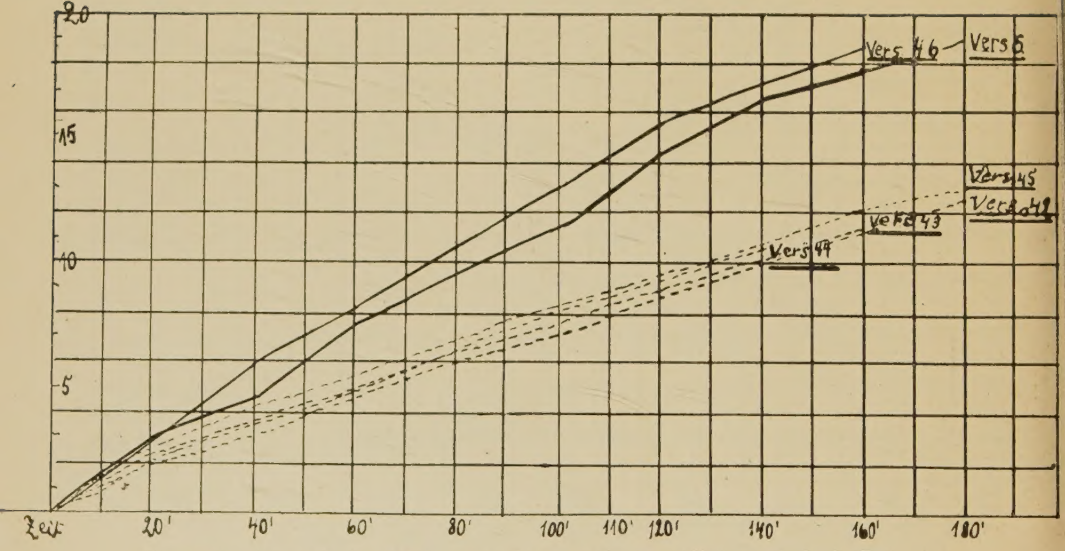
Vers. 38: 1 g Cyst.: 50 H_2O Kontrolle. Wbd. 36,6°, Luft 16,8°, Barom. 775,9.

Vers. 39: 1 g Cyst.: 40 H_2O + 10 ccm Alkohol. Wbd. 36,6°, Luft 17,5°, Barom. 775,6.

Vers. 40: 1 g Cyst.: 50 H_2O + 2 ccm Alkohol. Wbd. 36,6°, Luft 18°, Barom. 776,5.

Vers. 41: 1 g Cyst.: 50 H_2O + 1,5 ccm Chloralhydrat. Wbd. 36,9°, Luft 19,5°, Barom. 775.9.

Fig. 8: Einfluß von Toluol, Karbol, Phosphor, Arsen.



Vers. 42: 1,0 g Cyst.: 50 H_2O + 0,5 ccm Toluol. Wbd. 16,6°, Luft 17,6°, Barom. 776,6.

Vers. 43: 1,0 g Cyst.: 50 H_2O + 5 ccm Aqua carbolisat. Wbd. 16,6°, Luft 17,6°, Barom. 776,6.

Vers. 44: 1 g Cyst.: 50 H_2O + 1,0 Na Arseniat. Wbd. 17.8°, Luft 22.3°, Barom. 776,5.

Vers. 45: 1,0 g Cyst.: 50 H_2O + 1,0 Na_2HPO_4. Wbd. 18,2°, Luft 20°, Barom. 775,9.

Vers. 46: 1,0 g Cyst.: 50 H_2O + 0,1 Arsenigs. Na. Wbd. 36,6°, Luft 18,8°, Barom. 775,3.

Vers. 6: Kontrolle 1 : 50.

Lebenslauf.

Ich, Friedrich Baum, wurde am 23. August 1889 zu Zella St. Blasii i. Herzogtum Sachsen-Coburg-Gotha als Sohn des Kgl. Regierungs-Baumeisters a. D. Ernst Baum und seiner Ehefrau Anna, geb. Keil, geboren. Ich bin evangelischer Konfession. Meinen Schulunterricht erhielt ich auf den Kgl. Gymnasien zu Stettin, Elbing, Königsberg, am Großherzogl. Ludwigs-Gymnasium zu Gießen und dem Kgl. Kaiserin-Auguste-Gymnasium zu Charlottenburg, wo ich Ostern 1907 das Abiturientenexamen bestand. Dann studierte ich Medizin an den Universitäten Freiburg i. B. und Berlin, bestand hier im Sommer 1909 die ärztliche Vorprüfung und im Winter 1912 das med. Staatsexamen. Im Winter 1909/10 genügte ich meiner halbjährigen Militärpflicht. Vom 21. Januar 1913 bis 21. Juni 1913 war ich im pharmakolog. Institute der Universität Berlin und vom 1. Juli bis zum Ablauf des praktischen Jahres im städtischen Krankenhause zu Arnstadt i. Th. als Medizinalpraktikant tätig.

Es ist mir eine sehr angenehme Pflicht, Herrn Geh. Rat Prof. Dr. Heffter für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie seine überaus liebenswürdige Unterstützung bei der Anfertigung derselben und auch während meiner ganzen Tätigkeit im pharmakologischen Institute meinen herzlichsten und ehrerbietigsten Dank auszusprechen.